Experimentelle Untersuchungen zur Resorption von Glucose und Fructose bei alloxandiabetischen Ratten

Stavros Papastavrou

2

1962

Experimentelle Untersuchungen zur Resorption von Glucose und Fructose bei alloxandiabetischen Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Stavros Papastavrou
aus Athen

München 1965

AUS DER
MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Experimentelle Untersuchungen zur Resorption von Glucose und Fructose bei alloxandiabetischen Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Stavros Papastavrou
aus Athen

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Telefon 221777

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. W. SEITZ
Dekan:	Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 3. 1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	5
II.	Material und Methodik	7
	A. Methodik der Alloxanbelastung und Gruppeneinteilung	7
	B. Versuchsanordnung der Resorptionsprüfung bei der Ratte	8
	C. Chemische Nachweise	10
III.	Ergebnisse	12
	Tabellen	13
	Abbildungen	17
IV.	Diskussion	19
V.	Zusammenfassung	23
VI.	Literaturverzeichnis	24
	Lebenslauf	26

I. EINLEITUNG

Von verschiedenen Untersuchern (1, 2, 3, 4) war mitgeteilt worden, dass es unter Einfluss einer diabetischen Stoffwechsellage zu Änderungen der Zuckerresorption kommt. Es war festgestellt worden, dass bei Vorhandensein eines Diabetes Glucose rascher resorbiert wird und dass möglicherweise der Mangel an Insulin direkt dafür verantwortlich ist. Wie an anderer Stelle von Mehnert und Förster (5, 6) dargelegt wurde, gestatten jedoch frühere Untersuchungen zur Resorption bei Mensch und Tier nur mit Einschränkungen Vergleiche bzw. gültige Aussagen. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, dass die von den einzelnen Untersuchern verwendeten Methoden grosse Unterschiede aufweisen und häufig genug physiologischen Erfordernissen nicht entsprechen (Näheres bei Förster (6)).

Mit Hilfe einer von Mehnert und Förster beschriebenen (5) neuartigen Methodik gelingt es, die Nachteile und Fehlerquellen früherer Untersuchungsmethoden zu vermeiden. Diese Autoren beschrieben ein Verfahren, bei dem mit Hilfe der Verabreichung einer nicht resorbierbaren wasserlöslichen Kontrollsubstanz (Polyvinylpyrrolidon mit einem Molekulargewicht von ca. 30 000 = "Kollidon") eine Art Darm-"Clearance" durchgeführt werden kann. Nach gleichzeitiger Verabreichung einer Prüfsubstanz, also z.B. eines Zukkers, sowie der Kontrollsubstanz ist es möglich, aus der Änderung des Konzentrationsverhältnisses beider Substanzen zueinander das Ausmass der Resorption der Prüfsubstanz zu bestimmen. Das von den Autoren angegebene Verfahren bietet neben der Clearence-Technik noch den weiteren Vorteil, dass im Tierexperiment die zur Resorptionsprüfung herangezogenen Substanzen auf dem physiologischen Wege, d.h. oral mit der Schlundsonde, appliziert werden. Dadurch gelingt es, den zweifellos die Resorption mitbeeinflussenden wichtigen Faktor der unterschiedlichen Magenentleerung zu berücksichtigen und seine Bedeutung als Regulativ für das Angebot an den Darm zu erkennen.

Wegen der geschilderten Vorteile der neuen Methodik war es die Aufgabe dieser Arbeit, eine erneute Überprüfung der Resorptionsverhältnisse bei alloxandiabetischen Ratten durchzuführen und mit den vorliegenden Ergebnissen anderer Autoren zu vergleichen. Darüber hinaus sollten zwei weitere Gesichtspunkte Berücksichtigung finden:

1. Es sollte ermittelt werden, ob die für alloxandiabetische Tiere beschriebene Steigerung der Glucoseresorption von der diabetischen Stoffwech-

selstörung oder aber einer direkten, vom Diabetes unabhängigen Beeinflussung durch das Alloxan abhängt.

2. Die Einbeziehung von Fructose neben Glucose in die Resorptionsprüfungen sollte darüber Aufschluss geben, ob der - im Gegensatz zur Glucose - insulinunabhängig vom diabetischen Organismus verwertete Fruchtzucker anderen Resorptionsgesetzen unterliegt.

II. MATERIAL UND METHODIK

A. Methodik der Alloxanbelastung und Gruppeneinteilung

Zu den Untersuchungen wurden insgesamt 166 Ratten herangezogen. Von diesen Tieren erhielten 89 subcutane Alloxaninjektionen. Da Ratten auf gleiche Mengen Alloxan ausserordentlich unterschiedlich reagieren - bei gleicher Dosis stirbt ein Teil der Tiere, ein Teil wird diabetisch, ein Teil zeigt keinen Anhalt für Diabetes - war es nötig, die Alloxandosis zu variieren. Die Verabreichung des Alloxans erfolgte je nach Gewicht der 160 - 220 g schweren Ratten in Form einer subcutanen Injektion von 0,5 - 0,8 ml einer 4 bzw. 5 %igen Alloxanlösung. Die Schwankungen in der Dosierung bewegten sich zwischen 115 - 135 mg/kg Körpergewicht. Dieser geringe Unterschied in der Dosierung kam durch eine Steigerung der Alloxandosen im Laufe des Versuches zustande. Es muss jedoch betont werden, dass sich sowohl bei den später leicht diabetischen oder schwer diabetischen Tieren in etwa gleicher Verteilung solche finden, die die niedrigere oder die geringfügig höhere Alloxandosis erhalten hatten.

Der Zeitraum zwischen Verabreichung des Alloxans und der Durchführung des Resorptionsversuches schwankte zwischen 3 und 18 Tagen. Diese Differenz erklärt sich daraus, dass sich bei den Ratten verschieden schnell ober aber auch überhaupt nicht der Alloxandiabetes manifestierte. Hinsichtlich der Themastellung (siehe Einleitung) war dieses unterschiedliche Verhalten der Tiere durchaus erwünscht. Das unterschiedliche Ansprechen auf gleiche Alloxandosen ermöglichte eine Aussage darüber, ob das Alloxan selbst oder der Schweregrad der diabetischen Stoffwechselstörung für etwaige Abweichungen der Zuckerresorption verantwortlich waren. Eine Voruntersuchung der Ratten zur Feststellung des Diabetes wurde dadurch vorgenommen, dass die Tiere in Stoffwechselkäfigen gehalten und Proben ihres Harns auf das Vorkommen von Glucose untersucht wurden. Bei positivem Harnbefund wurde sofort eine Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen vorgenommen; die Blutentnahme erfolgte aus der Schwanzvene. Bei entsprechender Blutzuckererhöhung wurde der Resorptionsversuch innerhalb der nächsten 18 Stunden durchgeführt. Tiere, die im Verlaufe der Beobachtungszeit keine Glucosurie aufwiesen, wurden dennoch vor Heranziehung zum Resorptionsversuch stets einer Blutzuckerkontrolle unterzogen. Die Bestimmungen wurden regelmässig um die Mittagszeit bei den nicht nüchternen, mit Wasser, Brot, Fisch-

mehl und Salatblättern gefütterten Ratten vorgenommen. Nach den Alloxaninjektionen war eine Einteilung möglich, die aus Tab. I ersichtlich ist. Ausserdem wurde, wie oben erwähnt, die Glucose- und Fructoseresorption innerhalb der drei Prüfzeiten (15, 30 und 60 min) auch bei nichtdiabetischen Kontrolltieren geprüft. Dabei wurden weitere 77 Ratten berücksichtigt (Glucoseresorption: 15 min: 15 Tiere, 30 min: 12 Tiere, 60 min: 15 Tiere; Fructoseresorption: 15 min: 13 Tiere, 30 min: 12 Tiere, 60 min: 10 Tiere).

B. Versuchsanordnung der Resorptionsprüfung bei der Ratte

Wir verwendeten Albino-Ratten männlichen Geschlechts. 18 Stunden vor Versuchsbeginn wurden die Ratten gewogen und erhielten keine Nahrung mehr. Sie wurden in Einzelkäfige gesetzt, deren Bodengitter eine Maschenweite von 1 cm haben, um zu verhindern, dass die Tiere ihren eigenen Kot fressen. Vorversuche hatten die Notwendigkeit dieser Massnahme gezeigt, deren spätere Durchführung bewirkte, dass bei den Hauptversuchen der Dünndarm aller Tiere weitgehend kotfrei blieb. Um gut vergleichbare Ergebnisse zu bekommen, verwendeten wir nur Tiere, die nach dem 18stündigen Hungern zwischen 160 und 220 g wogen. Dies war erforderlich, weil wir feststellen konnten, dass schwerere Tiere eine verzögerte Magenentleerung haben und leichtere Ratten empfindlicher auf die Narkose und die Schlundsondierung reagieren. Die Tiere nahmen bei 24 stündigem Hungern 10 - 20 g ab. Zu Versuchsbeginn wurde den Ratten in einem nur ganz leichten und kurzen Ätherrausch durch die Schlundsonde 1,3 ml erwärmte Versuchslösung in den Magen gegeben. 15, 30 oder 60 Minuten nach der Sondierung wurden die Tiere im Ätherrausch getötet, das Abdomen eröffnet, der Dünndarm am Übergang ins Coecum und am Pylorus sowie der Magen an der Cardia abgebunden, vorsichtig herausgelöst, in Eiswasser gekühlt, gleichzeitig abgewaschen und anschliessend in Segmente aufgeteilt. Für die nach 15 min und 30 min getöteten Ratten wählten wir eine Aufteilung in drei Abschnitte. Es wurden doppelte Ligaturen gelegt und anschliessend der Darm nach 1/10 des Dünndarmes (von cranial nach caudal gerechnet) und nach 3/10 des Dünndarmes abgeschnitten. Damit war der Dünndarm von carnial nach caudal unterteilt in Abschnitte, die 1/10, 2/10 und 7/10 seiner Länge ausmachen. Bei den "60 min-Ratten" wurde der Dünndarm in 4 Abschnitte (2/10, 2/10, 2/10, 4/10) unterteilt. Die Darmsegmente und der Magen wurden aufgeschnitten, in Eiswasser ausgewaschen und sofort

TABELLE I: Die Einteilung der alloxandiabetischen Ratten in 12 Versuchsgruppen bei Berücksichtigung der Blutzuckerwerte der Tiere.

Prüfart	Prüfzeit: 15 min		Prüfzeit: 30 min		Prüfzeit: 60 min	
Glucoseresorption bei 35 leicht diabetischen Tieren Blutzucker in mg % bis 250	1) 117	9) 157	16) 115	21) 152	26) 124	31) 135
	2) 132	10) 157	17) 126	22) 186	27) 129	32) 148
	3) 135	11) 170	18) 133	23) 225	28) 131	33) 159
	4) 135	12) 193	19) 143	24) 236	29) 132	34) 161
	5) 138	13) 198	20) 151	25) 244	30) 132	35) 222
	6) 140	14) 213				
	7) 143	15) 219				
	8) 152					
Glucoseresorption bei 18 schwer diabetischen Tieren Blutzucker in mg % bis 250	1) 260		6) 262		12) 312	18) 444
	2) 268		7) 310		13) 350	
	3) 268		8) 324		14) 358	
	4) 282		9) 325		15) 370	
	5) 326		10) 343		16) 373	
			11) 352		17) über 385	
Fructoseresorption bei 14 leicht diabetischen Tieren Blutzucker in mg % bis 250	1) 173		4) 138	10) 230	11) 117	
	2) 208		5) 160		12) 167	
	3) 228		6) 160		13) 180	
			7) 205		14) 240	
			8) 212			
			9) 220			
Fructoseresorption bei 22 schwer diabetischen Tieren Blutzucker in mg % über 250	1) 270	7) über 385	8) 282	12) über 385	15) 252	21) über 385
	2) 284		9) 302		16) 255	
	3) 306		10) über 385	13) 410	17) 265	22) über 385
	4) 353			14) 418	18) 270	
	5) 353		11) über 385		19) 304	
	6) über 385				20) über 385	

analytisch aufgearbeitet. Zum Auswaschen wurden je nach der zu erwartenden Konzentration 10 - 40 ml aqua destillata verwendet. Die Versuchslösung wurde erst unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt. Sie enthielt immer 10 %iges Kollidon und ausserdem Glucose (50 %) oder Fructose (30 %). Diese hohen Zuckerkonzentrationen hatten sich nach früheren Untersuchungen von Förster (6) als besonders zweckmässig erwiesen, da sie die unterschiedliche Resorptionsgeschwindigkeit von Glucose und Fructose berücksichtigen und eine bessere Differenzierung der Resorptionsgeschwindigkeit innerhalb der einzelnen Prüfzeiten erlauben, als dies bei niedrigen Konzentrationen der Fall wäre.

C. Chemische Nachweise

a) Nachweis des Kollidon, modifiziert nach SCHUBERT (7)

1 oder 2 oder 3 ml Darminhalt werden mit aqua destillata auf 3 ml aufgefüllt, mit 1 ml 10 %iger Kupfersulfat-Lösung versetzt und im siedenden Wasserbad 2 min erhitzt. Das Kupfersulfat wird mit 1 ml 10,61 %igem Kaliumferrocyanid ausgefüllt. Danach wird abgekühlt, gut durchgeschüttelt und zentrifugiert.

Vom Überstand werden 1 oder 2 ml mit 5 ml Jod-Jodkalilösung (0,08 mol. KJ : 0,01 mol. Jod-Sublimat) versetzt, wobei es bei Vorhandensein von Kollidon zu einer Farbvertiefung kommt, die durch Bildung eines Kollidonjodkomplexes entsteht. Dieser Komplex wird mit 5 ml 10 %iger Salzsäure ausgefüllt, zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Der Niederschlag wird mit 25 ml Methylalkohol aufgenommen und die Farbintensität am Photometer Eppendorf bei 436 mμ gemessen.

Nach Aufnahme einer Extinktionskurve am Spektrophotometer entschieden wir uns für diese Wellenlänge, obwohl sie ziemlich am Rande des bei 358 mμ befindlichen Maximums liegt. Sie zeigt aber den Vorteil eines grösseren Messbereiches.

Die abgelesenen Werte werden mit einer Eichkurve verglichen. Es muss sofort abgelesen werden, da der Kollidonjodkomplex beim Stehen eine Farbintensitätsminderung erfährt.

b) Nachweise der Prüfsubstanzen

Enteiweissung: Zur Enteiweissung verwendeten wir nach entsprechenden Vorversuchen bei allen 2 Prüfsubstanzen Perchlorsäure. 1 oder 2 ml des Darmextraktes wurden je nach der zu erwartenden Konzentration mit 5 oder 10 ml Perchlorsäure versetzt, deren Konzentration so gewählt wurde, dass die Endkonzentration 3 % betrug. Nach kräftigem Durchschütteln wurde zentrifugiert und vom Überstand je nach der zu erwartenden Konzentration und nach der Art des Nachweises zwischen 0,1 und 2 ml für den Nachweis abpipettiert. Die kolorimetrischen Untersuchungen wurden alle am Photometer Eppendorf durchgeführt. Die erhaltenen Werte wurden auf einen Vergleichswert bezogen.

1. Nachweis der Glucose:
   Der Nachweis erfolgte nach der von Keilin und Hartree (8) entwickelten und von Teller (9) und Keston (10) verbesserten Methode (Boehringer-Testverfahren). Er beruht auf der von der Glucoseoxydase katalysierten Oxydation der Glucose zu Glucuronsäure, wobei Wasserstoffperoxyd entsteht. In Anwesenheit von Peroxydase oxydiert Peroxyd o-Dianisidin-Hydrochlorid zu einem rotbraunen Farbstoff. Die Konzentration des Farbstoffes, der bei 436 mμ kolorimetriert wird, ist ein Mass für die Konzentration der Glucose. Wir verwendeten 0,1 ml enteiweisste Flüssigkeit auf 5 ml des gelieferten "Glucose-Reagens" (Boehringer).

2. Nachweis der Fructose:
   Der Nachweis der Fructose erfolgte nach Roe (11). Vom Überstand wurde nach der Enteiweissung 1 ml mit 3 ml 30 %iger Salzsäure angesäuert und mit 1 ml 0,1 %iger alkoholischer Resorcinlösung versetzt und 8 min bei 80° Celsius im Wasserbad erhitzt, abgekühlt und bei 546 mμ sofort kolorimetriert.

III. ERGEBNISSE

Im Folgenden werden die Resultate der Resorptionsprüfungen in vier Tabellen (Tab. II - V) und zwei Abbildungen (Abb. I und II) wiedergegeben.

Folgende Abkürzungen gelten für die nachstehenden vier Tabellen:

$\bar{x}$ = Mittelwert

s = Standardabweichung

$s_{\bar{x}}$ = Streuung

n = Zahl der Versuchstiere

TABELLE II: Die Resorption 50 %iger Glucoselösungen (650 mg in 1, 3 ml) bei leicht oder schwer diabetischen bzw. nichtdiabetischen Ratten

	Resorptionsdauer: 15 min			Resorptionsdauer: 30 min			Resorptionsdauer: 60 min		
	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$
Nichtdiabetische Ratten									
Darmangebot	122, 0 mg	41, 85	11, 20	228, 5 mg	54, 90	16, 55	286, 5 mg	52, 90	14, 15
davon resorbiert	81, 5 mg	21, 50	5, 75	170, 0 mg	49, 80	15, 10	264, 5 mg	49, 65	13, 25
in Prozent	(= 66, 8 %)			(= 74, 4 %)			(= 92, 3 %)		
		n = 15				n = 12			n = 15
leicht diabetische Ratten									
Darmangebot	127, 5 mg	61, 15	16, 65	195, 0 mg	50, 40	16, 75	325, 0 mg	88, 10	29, 40
davon resorbiert	89, 5 mg	52, 65	14, 10	170, 5 mg	38, 90	14, 60	296, 0 mg	90, 35	30, 10
in Prozent	(= 70, 2 %)			(= 87, 4 %)			(= 91, 1 %)		
			n = 15			n = 10			n = 10
schwer diabetische Ratten									
Darmangebot	98, 5 mg	35, 30	16, 75	243, 0 mg	61, 40	27, 45	346, 0 mg	77, 60	31, 70
davon resorbiert	80, 5 mg	30, 50	15, 25	209, 0 mg	57, 50	25, 75	339, 5 mg	80, 15	32, 80
in Prozent	(= 81, 7 %)			(= 86, 0 %)			(= 98, 1 %)		
			n = 5			n = 6			n = 7

TABELLE III: Die Resorption 30 %iger Fructoselösungen (390 mg in 1, 3 ml) bei leicht oder schwer diabetischen bzw. nichtdiabetischen Ratten

	Resorptionsdauer: 15 min			Resorptionsdauer: 30 min			Resorptionsdauer: 60 min		
	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$
Nichtdiabetische Ratten									
Darmangebot	101,1 mg	37,23	16,95	114,0 mg	42,99	12,96	175,8 mg	32,37	10,77
davon resorbiert	44,4 mg	10,77	4,98	67,5 mg	19,14	5,76	124,2 mg	23,13	7,71
in Prozent	(= 43,9 %)			(= 59,2 %)			(= 70,6 %)		
			n = 13			n = 12			n = 10
leicht diabetische Ratten									
Darmangebot	80,1 mg	27,24	19,23	106,8 mg	39,06	15,93	151,2 mg	29,82	17,19
davon resorbiert	34,8 mg	6,96	4,92	47,1 mg	8,31	3,39	133,8 mg	8,73	5,04
in Prozent	(= 43,4 %)			(= 44,1 %)			(= 88,5 %)		
			n = 3			n = 7			n = 4
schwer diabetische Ratten									
Darmangebot	105,6 mg	34,65	14,13	165,9 mg	52,74	21,57	180,9 mg	49,56	18,75
davon resorbiert	45,6 mg	18,36	7,50	79,8 mg	27,21	11,10	134,7 mg	35,37	13,35
in Prozent	(= 43,2 %)			(= 48,1 %)			(= 74,5 %)		
			n = 7			n = 7			n = 8

TABELLE IV: Die Resorption 50 %iger Glucoselösungen (650 mg in 1, 3 ml) in den einzelnen Dünndarmabschnitten und im Magen bei leicht oder schwer diabetischen bzw. nichtdiabetischen Ratten+)

	Resorptionsdauer: 15 min				Resorptionsdauer: 30 min				Resorptionsdauer: 60 min				
	M	1	2	3	M	1	2	3	M	1	2	3	4
nichtdiabetische Ratten													
Angebot in mg	400, 0	20, 2	33, 0	69, 0	308, 4	23, 5	51, 0	153, 7	261, 1	22, 1	17, 0	30, 7	216, 6
Resorption in mg	5, 8	8, 2	16, 7	56, 7	5, 3	6, 6	27, 2	136, 2	10, 3	10, 4	11, 9	28, 3	213, 8
Resorption in %	1, 4	40, 6	50, 6	82, 2	1, 7	28, 1	53, 3	88, 6	3, 9	47, 1	70, 0	92, 2	98, 7
leicht diabetische Ratten													
Angebot in mg	427, 9	17, 7	33, 5	76, 0	370, 6	19, 1	20, 7	155, 0	213, 5	15, 3	16, 3	26, 0	252, 2
Resorption in mg	24, 4	6, 0	16, 7	66, 8	15, 4	10, 8	9, 5	150, 1	6, 9	8, 8	12, 2	24, 0	250, 7
Resorption in %	5, 2	33, 9	49, 9	86, 8	4, 2	56, 5	45, 9	96, 9	3, 2	57, 5	74, 8	92, 3	99, 3
schwer diabetische Ratten													
Angebot in mg	435, 0	12, 1	16, 4	69, 8	350, 6	19, 5	30, 0	193, 4	174, 1	16, 3	14, 8	75, 2	239, 7
Resorption in mg	34, 5	7, 4	12, 0	61, 3	20, 6	7, 5	15, 9	185, 6	13, 9	12, 3	14, 0	74, 2	238, 6
Resorption in %	7, 9	61, 1	73, 2	87, 8	5, 9	38, 4	53, 0	96, 0	8, 0	75, 4	94, 6	98, 7	99, 6

+) Näheres über die Unterteilung des Darmes und über die Kriterien für die Einteilung der Ratten in Gruppen, s. Methodik.

Abkürzungen: M = Magen; 1, 2, 3, 4 = 1., 2., 3., 4. Darmabschnitt

TABELLE V: Die Resorption 30 %iger Fructoselösungen (390 mg in 1, 3 ml) in den einzelnen Dünndarmabschnitten und im Magen bei leicht oder schwer diabetischen bzw. bei nichtdiabetischen Ratten+)

	Resorptionsdauer: 15 min				Resorptionsdauer: 30 min				Resorptionsdauer: 60 min				
	M	1	2	3	M	1	2	3	M	1	2	3	4
nichtdiabetische Ratten													
Angebot in mg	232,1	15,1	17,6	68,4	206,5	10,6	17,8	85,6	160,4	16,6	13,9	25,2	120,0
Resorption in mg	0,3	5,4	5,6	33,2	2,2	4,3	4,2	58,9	3,4	3,3	6,4	16,0	98,6
Resorption in %	0,1	35,8	31,8	48,6	1,1	40,5	23,6	68,7	2,2	19,9	46,0	63,5	82,2
leicht diabetische Ratten													
Angebot in mg	238,0	5,7	13,3	61,0	208,3	7,5	18,3	79,9	152,2	7,7	9,7	23,0	110,4
Resorption in mg	2,4	1,1	3,8	29,8	6,1	2,5	4,8	39,8	8,8	2,4	5,5	19,8	106,0
Resorption in %	1,0	19,3	28,6	48,8	2,8	33,3	26,2	49,9	5,8	31,2	56,7	86,2	96,9
schwer diabetische Ratten													
Angebot in mg	220,9	9,4	20,9	75,2	150,3	10,2	20,7	135,0	129,7	10,6	24,2	48,7	97,4
Resorption in mg	16,1	2,8	6,5	36,3	4,0	4,0	7,4	68,4	5,7	4,1	15,1	39,8	75,6
Resorption in %	7,3	29,8	31,1	48,3	2,7	39,2	35,7	50,6	4,4	38,7	62,4	81,7	77,7

+) Näheres über die Unterteilung des Darmes und über die Kriterien für die Einteilung der Ratten in Gruppen, s. Methodik.

Abkürzungen: M = Magen; 1, 2, 3, 4 = 1., 2., 3., 4. Darmabschnitt

ABBILDUNG I: Die absolute Resorption von Glucose (1, 3 ml einer 50 %igen Lösung) oder Fructose (1, 3 ml einer 30 %igen Lösung) bei leicht oder schwer diabetischen bzw. bei nichtdiabetischen Ratten.

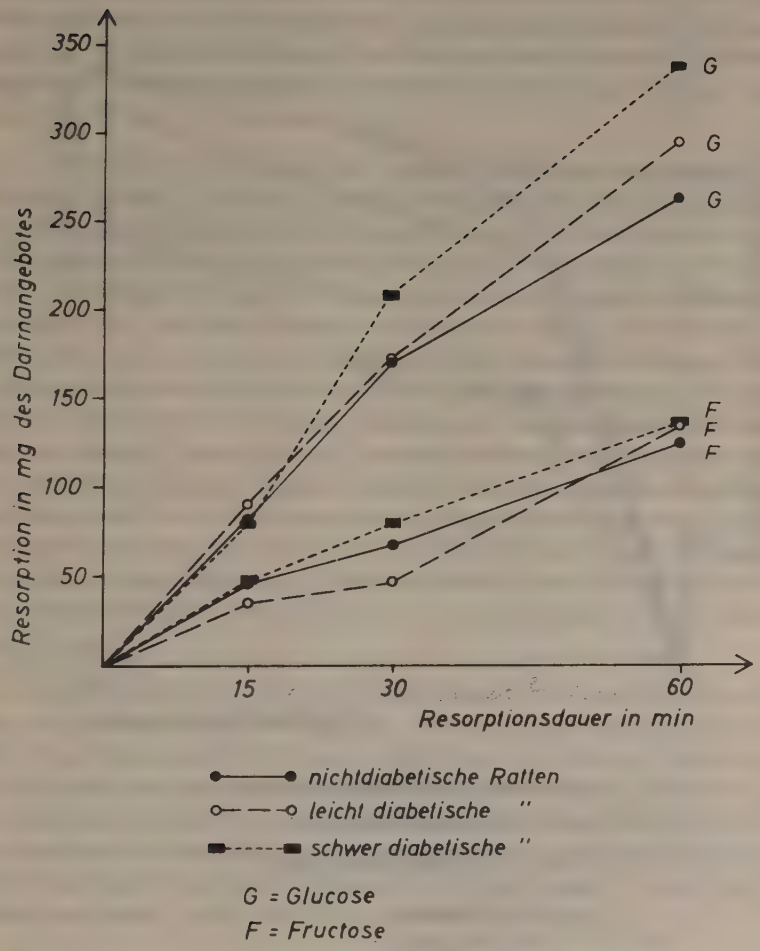
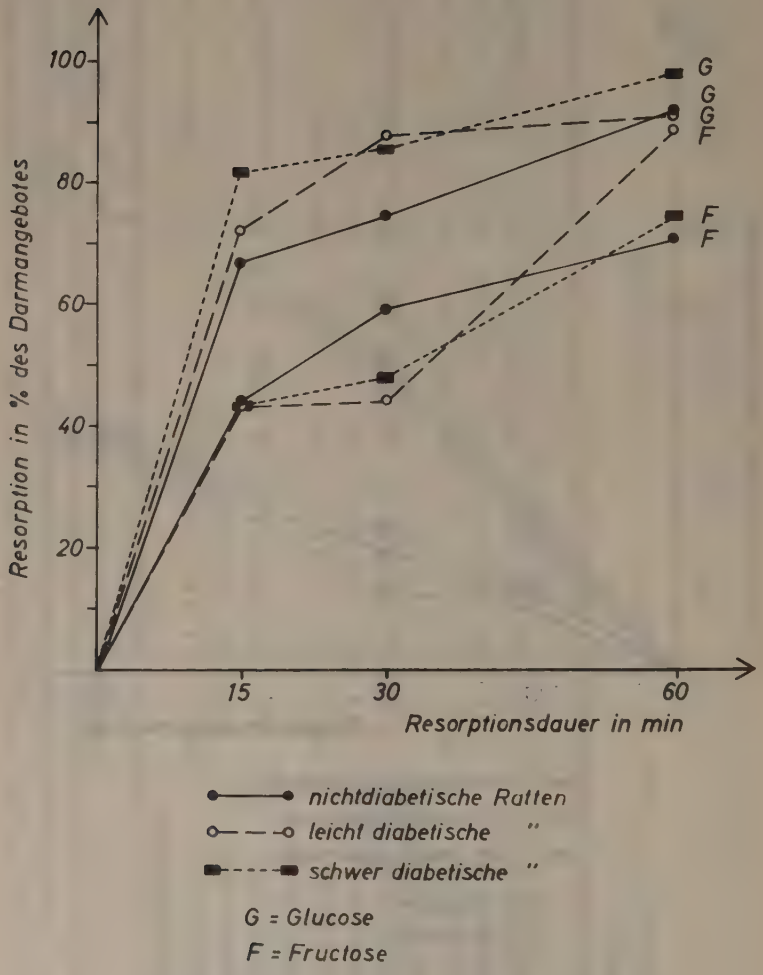


ABBILDUNG II: Die prozentuale Resorption von Glucose (1, 3 ml einer 50 %igen Lösung) oder Fructose (1, 3 ml einer 30 %igen Lösung) bei leicht oder schwer diabetischen bzw. bei nichtdiabetischen Ratten.



IV. DISKUSSION

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse (s. Teil III) bestätigen, dass auch bei Verwendung der neuartigen, genaueren und physiologischen Erfordernisse erfüllenden Versuchsanordnung die Glucoseresorption bei alloxanbelasteten Ratten schneller vor sich geht als bei den Kontrolltieren. Dies gilt sowohl für den prozentualen Anteil der resorbierten Glucose vom Angebot an den Darm als auch hinsichtlich der resorbierten Absoluten Glucosemenge des Darmangebotes in mg. Die letztgenannte "absolute Resorption" zeigt diesen Unterschied jedoch zweifellos deutlicher (vergl. Abb. I, Tab. II und III).

Dieser Befund erlaubt folgende Deutung: eine starke Erhöhung der "absoluten Resorption" (in mg der dem Darm angebotenen Menge Prüfsubstanz) kann erklärt werden sowohl durch ein grösseres Darmangebot infolge rascherer Magenentleerung als auch durch eine beschleunigte Resorption im Darm selbst, unabhängig von der Grösse des Angebotes. Aus unseren Untersuchungen ergibt sich, dass beide Faktoren von Bedeutung sind. Einmal weisen nämlich die stark alloxandiabetischen Ratten bei längerer Prüfdauer (60 min) insgesamt bereits ein höheres durchschnittliches Darmangebot (s. Tab. II) und damit eine schnellere Magenentleerung auf. Zum anderen ergibt sich aber die Tatsache, dass auch die "prozentuale Resorption" der Glucose (in % des Darmangebotes), also unabhängig von der Grösse des Darmangebotes, ebenfalls grösser ist als die prozentuale Resorption der Normaltiere, und dies zwar besonders deutlich auch bei den kurzen Prüfzeiten (15 und 30 min). Aus letzterem Befund ergibt sich aber der Schluss, dass im Organismus des Alloxantieres Glucose rascher aus dem Darm aufgenommen wird als bei den Kontrollratten.

Es zeigt sich erneut, wie schon von Mehnert und Förster (5) bei der Prüfung der Zuckerresorption am gesunden Tier festgestellt worden war, dass eine isolierte Betrachtung der Resorptionskapazität des Darmes ohne Berücksichtigung des Regulationsmechanismus der Magenentleerung nicht statthaft ist. Beide Mechanismen - verstärktes Resorptionsvermögen des Darmepithels, beschleunigte Magenentleerung - arbeiten vielmehr gleichsinnig und offensichtlich mit dem Ziel, dem Alloxantier besonders schnell Glucose zur - zumindest teilweisen - Utilisierung zur Verfügung zu stellen.

Auch die Frage, ob das Alloxan selbst oder aber die durch die Alloxanbelastung hervorgerufene diabetische Stoffwechselstörung für die verstärkte Glucoseresorption verantwortlich ist, kann auf Grund unserer Untersuchungen

beantwortet werden. Zu diesem Zweck war es sehr günstig, dass Ratten, die gleiche Alloxanmengen erhielten, unterschiedlich hinsichtlich der Entstehung eines Diabetes reagierten. Dadurch war es möglich, die Resorption von Tieren zu vergleichen, die zwar gleiche Alloxandosen erhalten hatten, aber in einem verschiedenen Ausmass diabetisch wurden. Es zeigt sich eindeutig (s. Tab. I, Abb. I und II), dass Tiere mit höheren Blutzuckerwerten, also einer graduell stärkeren diabetischen Stoffwechselstörung, prozentual und absolut mehr Glucose in der Zeiteinheit resorbierten, als Ratten, die zwar die gleiche Alloxandosis erhalten hatten, aber niedrigere Blutzuckerwerte aufwiesen. Die langsamste Glucoseresorption zeigen dementsprechend und folgerichtig die nichtdiabetischen Kontrolltiere. Auch wenn letztere mitunter eine langsamere Resorption aufwiesen als Alloxantiere mit normalen Blutzuckerwerten, so spricht dies dennoch nicht für eine Beeinflussung der Resorptionskapazität durch das Alloxan selbst. Denn einmal mag ja auch bei diesen Alloxantieren mit normalen, bei der einmaligen Blutzuckerbestimmung festgestellten Werten bereits eine Art Praediabetes vorgelegen haben; zum anderen spricht das Verhalten der Alloxantiere mit schwerem Diabetes entscheidend für eine Beeinflussung der Glucoseresorption durch die Schwere der Stoffwechselstörung und nicht durch das Alloxan selbst, das ja auch bei den nur leicht diabetischen Ratten in gleicher Dosierung gegeben worden war. Der Befund, dass sich eine stärkere Glucoseresorption bei schwerem Alloxandiabetes findet, lässt sich fast ausnahmslos für alle drei Prüfzeiten (15, 30, 60 min) sowohl für die absolute als auch für die prozentuale Resorption bestätigen.

Gänzlich andere Ergebnisse ergaben die Prüfungen der Fructoseresorption. Hier zeigt sich - im Gegensatz zu den Resultaten der Glucoseresorption -, dass für keine Prüfzeit eine einheitliche Tendenz für eine Zu- oder Abnahme der absoluten und prozentualen Fructoseresorption zu beobachten ist, gleichgültig, ob es sich um Normaltiere bzw. um Tiere mit leichtem oder mit schwerem Alloxandiabetes handelte (s. Tab. III, Abb. I und II).

Die Feststellung, dass diabetische Individuen verstärkt Glucose, nicht hingegen vermehrt Fructose resorbieren, fügt sich gut in das Bild über die Pathophysiologie des Diabetes mellitus. Es ist bekannt, dass der diabetische Organismus den Insulinmangel mit einer Blutzuckererhöhung um jeden Preis beantwortet, um auf diese Weise den Körperzellen mehr Glucose anbieten zu können. Diesem zwar im Augenblick lebensbewahrenden, auf die Dauer aber deletären Prinzip, das unter anderem zur Gluconeogenese aus wichtigem körpereigenen Eiweiss führt, ist offenbar auch der Mechanismus der Glucoseresorption untergeordnet: je mehr und je schneller Glucose aus

dem Darm resorbiert wird, um so eher gelingt es dem Organismus, die für den Augenblick wichtige Blutzuckersteigerung hervorzurufen. Ob die raschere Resorption durch eine Verminderung des Insulingehaltes im Blut zustande kommt, wie manche Autoren annehmen (2), können wir auf Grund dieser Untersuchungen nicht entscheiden. Immerhin ist bemerkenswert, dass die bekanntermassen insulinunabhängig und damit auch vom diabetischen Organismus ohne Erhöhung der Blutzuckerkonzentration verwertete Fructose nicht schneller als gewöhnlich resorbiert wird. Auch dieser Befund spricht für die tiefgreifenden Unterschiede zwischen Glucose und Fructose im Stoffwechsel des Diabetikers. Darüber hinaus ist es auch von therapeutischem Interesse, dass die Fructose vom diabetischen Organismus nicht rascher resorbiert wird als vom nichtdiabetischen. Auf die Klinik übertragen, würde dieser Befund nämlich bedeuten, dass die Verabreichung von Fructose an Diabetiker keine überstürzte Resorption dieses Zuckers nach sich zieht und somit auch nicht zu einer messbaren Umwandlung von Fructose zu Glucose führt, die nur bei einem Überangebot von Fructose innerhalb eines kurzen Zeitraumes zu befürchten wäre.

Aus den Tabellen IV und V, die Aufschluss über die Resorption von Glucose und Fructose in verschiedenen Abschnitten des Magendarmtraktus geben, sei nur Folgendes hergehoben: für beide Zucker ist eine immer stärkere Resorption festzustellen, je weiter die Prüfsubstanz im Laufe des Versuches nach 15, 30 oder 60 min caudalwärts wandert. Dieser Befund erklärt sich einfach aus der Tatsache, dass bei der Prüfung des Verhältnisses zwischen Kontrollsubstanz und Prüfsubstanz alle jene Mengen Prüfsubstanz in Wegfall geraten, die in mehr cranial gelegenen Abschnitten bereits resorbiert wurden. Aus der Menge der jeweils noch vorgefundenen Kontrollsubstanz (= Kollidon) lässt sich gut erkennen, welche Mengen Prüfsubstanz an sich noch in den einzelnen Magen-Darm-Abschnitten zu erwarten wären, wenn keine Resorption stattgefunden hätte. Bemerkenswert ist besonders, dass auch nach 60 min noch immer erhebliche Mengen Kontrollsubstanz und Prüfsubstanz im Magen vorgefunden werden. Wegen der geringen Magenresorption ist die Differenz zwischen ermittelter Kollidon- und Zuckermenge - verglichen mit dem Konzentrationsverhältnis der beiden Substanzen in der Ausgangslösung - natürlich gering. Dennoch fällt auf, dass innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen das Ausmass der Magenresorption nicht nur zumeist bei fortschreitender Versuchsdauer, sondern auch bei stärkerem Schweregrad des Diabetes zunimmt. Erstaunlicherweise lässt sich diese - quantitativ gewiss nicht ins Gewicht fallende - Zunahme der Magenresorption sowohl für die Glucose als auch für die Fructose feststellen. Da jedoch innerhalb der ver-

schiedenen Versuchsgruppen beträchtliche Schwankungen bestehen und die Magenresorption, verglichen mit der Darmresorption, auch bei schwer diabetischen Tieren kaum eine Rolle spielt, soll dieser Befund hier nur erwähnt, jedoch nicht näher diskutiert werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe einer neuen Methodik, der sogenannten "Kollidon-Clearance" sollte zu der Frage Stellung genommen werden, ob diabetische Ratten eine schnellere Zuckerresorption aufweisen als nichtdiabetische Tiere. Zu diesem Zweck wurden insgesamt 166 Ratten mit Lösungen von Glucose (50 %) oder Fructose (30 %) belastet und die Resorption nach 15, 30 oder 60 min beurteilt. 89 Tiere erhielten subcutane Alloxaninjektionen, die - bei gleicher Dosierung - zu einem graduell verschieden schweren Diabetes führten. Auf diese Weise war es möglich zu entscheiden, ob für Resorptionsunterschiede das Ausmass der diabetischen Stoffwechselstörung oder aber das Alloxan selbst verantwortlich sind. Es ergab sich, dass die Resorptionsgeschwindigkeit der Glucose, nicht jedoch der Fructose, stets dann zunimmt, wenn der Schweregrad des Diabetes der einzelnen Tiergruppen ein stärkeres Ausmass erreicht. Daraus kann man schliessen, dass sich auch die Glucoseresorption in das Prinzip des diabetischen Organismus einfügt, wonach den an Zucker verarmten Zellen Glucose um jeden Preis zugeführt werden soll. Die bei den nichtdiabetischen Kontrolltieren festgestellten Werte für die Glucose- und die Fructoseresorption decken sich mit den von Förster (6) gemachten Angaben. Die erhobenen Befunde werden anhand des vorliegenden Schrifttums diskutiert.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Paule, F. and Drury, D.R.:
   Am. J. Physiol., 137, 242 (1942)
2. Laszt, L. and Vogel, H.: Nature, 157, 551 (1946)
3. Sols, A., Vidal, S. and Larralde, J.: Nature, 161, 932 (1948)
4. Crane, R.K.: Biochem. Biophys. Res. Comm. 4, 436 (1961)
5. Mehnert, H., und Förster, H.: Klin. Wschr. 39, 596 (1961)
6. Förster, H.: Med. Inaug.-Diss. München, 1962 (im Druck)
7. Schubert, R. und H. Werner: Z. ges. exp. Med. 131, 90 (1959)
8. Keilin, D., and E.F. Hartree: Biochem. J. 39, 293 (1945)
9. Teller, J.D.: Abstr. Amer. Chem. Soc. 130th Meeting 69 C (1956)
10. Keston, A.S.: Abstr. Amer. Chem. Soc. 130th Meeting 69 C (1956)
11. Roe, J.H.: J. Biol. Chem. 107, 15 (1934)

Herrn Professor Dr. W. SEITZ danke ich für die Überlassung des Themas.

Herrn Dr. H. MEHNERT danke ich für seine liebenswürdige Hilfe, mit der er mir stets bei allen Schwierigkeiten meiner Arbeit zur Seite stand.

LEBENSLAUF

Am 23. Dezember 1934 wurde ich in Athen als Sohn des Rechtsanwaltes und Philologen Panos Papastavrou und seiner Frau Chrysoula, geb. Albani, geboren. Mit 7 Jahren kam ich in die Volksschule. 1945 bestand ich die Aufnahmeprüfung in die Oberschule. Acht Jahre lang besuchte ich das Realgymnasium "Athens College" in Athen. 1952 legte ich dort die Reifeprüfung ab. 1953 kam ich nach München und begann mit dem Medizinstudium an der Universität. Im Herbst 1956 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Die übrigen klinischen Semester studierte ich ebenfalls in München, wo ich Anfang Januar 1961 die ärztliche Prüfung bestand. Seit Februar 1961 arbeitete ich an meiner Inaugural-Dissertation und war als Medizinalassistent an einer chirurgischen Privatklinik tätig.